Feel so Bio 19キットシリーズ

#007　生物発光 キット

取扱説明書

ver.1.3

目次

本キットの特徴

本キットは、生物発光として有名なホタル尾部の発光現象を試験管内で再現する実験キットです。

酵素として働くタンパク質ルシフェラーゼに基質であるルシフェリンおよび、ATPを添加することで発光を再現します。さまざまな温度、pH条件でのこれらの反応を比較することにより、生物発光の仕組みだけでなく、生体内での酵素の働き、酵素の働きと至適条件について学習することが可能です。

キット使用時に必要な試薬・機材等の一覧

キット内容 【生徒20名（2人一組）分】

・ホタライト（A粉末，B粉末）	各50mL分
・分注用チューブ	40本
・ホタライト溶解用チューブ	2本
・スポイト	2本

本キット以外に必要な試薬・機材一覧

・蒸留水	100mL
・分注用ピペット	数本

内容物について

ホタライト（A粉末）

酵素ルシフェラーゼを含みます。蒸留水に溶解してご使用ください。粉末の状態で、冷蔵保存の場合**3**ヶ月の保存が可能です。酵素は失活しやすいため、一度蒸留水に溶解した後はその日のうちにご使用ください。

ホタライト（B粉末）

発光物質ルシフェリンおよびATPを含みます。蒸留水に溶解してご使用ください。保存期間等はA粉末と同じです。

分注用チューブ

ホタライトの溶液を分注する目的で使用します。1mL程度のホタライト溶液をA液・B液別々に分注してください。

ホタライト溶解用チューブ

ホタライトを溶解する際に使用してください。

スポイト

A液、B液を分注する際に使用してください。A液とB液が混ざらないように気をつけてください。

分注について

班構成

本実験キットは20名が1人ずつ実験を行なうことを推奨します。

機材一人分

A液（1ml）　…1本
B液（1ml）　…1本
※実験手順の項に従って試薬を溶解してください。

ホタルの発光について

ホタルの発光現象

ホタルの光を見たことがありますか？ホタルは繁殖期である初夏に最も強く光ります。ホタルの光は求愛のコミュニケーション信号と言われ、光りながら飛び回っているオスは草むらにいるメスから光の信号を受けると一直線に降りていきます。このようすからホタルは「火垂」と書かれるようになりました。

ホタルの発光器は、腹部にあります。この部分に発光細胞があり、さらにその細胞の中で、化学反応による発光現象が起きているのです。この反応では、熱を出さずに発光するため、この光を冷光とよんでいます。

ホタルの光り方は種によって異なりますが、同じ種のホタルでも、生息域によって違いがあります。例えばゲンジボタルは、西日本では約2秒に１回、東日本では約４秒に１回光ることが知られています。

発光と酵素反応

ホタルは、ルシフェリン（発光物質）とルシフェラーゼ（酵素）をATPとMg^{2+}，O_2存在下で反応させることで発光しています。ルシフェラーゼは、ホタルなどの発光生物がもつ酸化酵素の一種です。基質であるルシフェリンを、ATPと結合させて酸化する反応を触媒します。ルシフェリンはこの反応を経てオキシルシフェリンとなり、分子中の酸素が励起し、励起一重項とよばれる状態になります。この状態から基底状態へ戻るときに、蛍光を発します（付属資料参考）。これがホタルの発光の原理です。

実験手順

1）Ａ粉末、Ｂ粉末をそれぞれ50ｍLの水に溶かす。

2）溶液を1.5ｍLずつ、分注チューブに分注する。

3）Ｂ液にA液を少しずつ入れる。

4）暗闇の中で観察する。

　発光は酵素活性があることを示しますので、温度を変化させる、pHを変化させるなどして、酵素の至適条件を検討する実験をするなど、さまざまな工夫が可能です。

付録１　酵素の触媒作用

酵素には、化学反応を促進する触媒作用があります。これは化学物質による触媒反応と区別し、生体触媒と呼ばれています。それでは触媒作用とは一体どのようなはたらきなのでしょうか。

生命活動を維持するために、生体内ではさまざまな化学反応が起きています。胃腸での食物の分解反応などもそのひとつです。

例えば、食物は放置しただけでは分解されません。食物の分解という化学反応を起こすためには、相応のエネルギー（活性化エネルギー）が必要なのです。触媒は、このエネルギー量を減らし、反応を起こしやすくする働きがあるのです。このように、食物は胃腸に入ると消化酵素（触媒）の働きにより分解されます。

酵素の実体

触媒の機能は、通常、温度を上げると、それに比例して触媒能が上がります。しかし、酵素は無機触媒とは異なり、ある温度以上になるとその活性が失われます。これは、酵素の主成分がタンパク質だからなのです。

タンパク質は熱に弱い物質です。例えば、生卵は熱を加えると固まりますし、牛乳は煮沸するとタンパク質が固まり、表面に薄い膜を形成します。これらは、タンパク質の形が変わった（変性）ために起こる現象なのです。酵素も、タンパク質が主成分であることから、熱を加えすぎると形が変化し、その機能を失ってしまうのです。

また、タンパク質は酸・アルカリにも弱い物質であるため、酵素活性はpHにも依存します。

付録2
ルシフェリン-ルシフェラーゼ反応

下図は、ルシフェラーゼとATPによってルシフェリンが酸化し、蛍光を発するまでの反応の実際です。

デヒドロルシフェリン

O_2

D-(－)-ルシフェリン

E,Mg^{2+},ATP

ルシフェリルアデニレート

E,O_2

反応1

$-CO_2$

H_2O

反応2

$-CO_2$

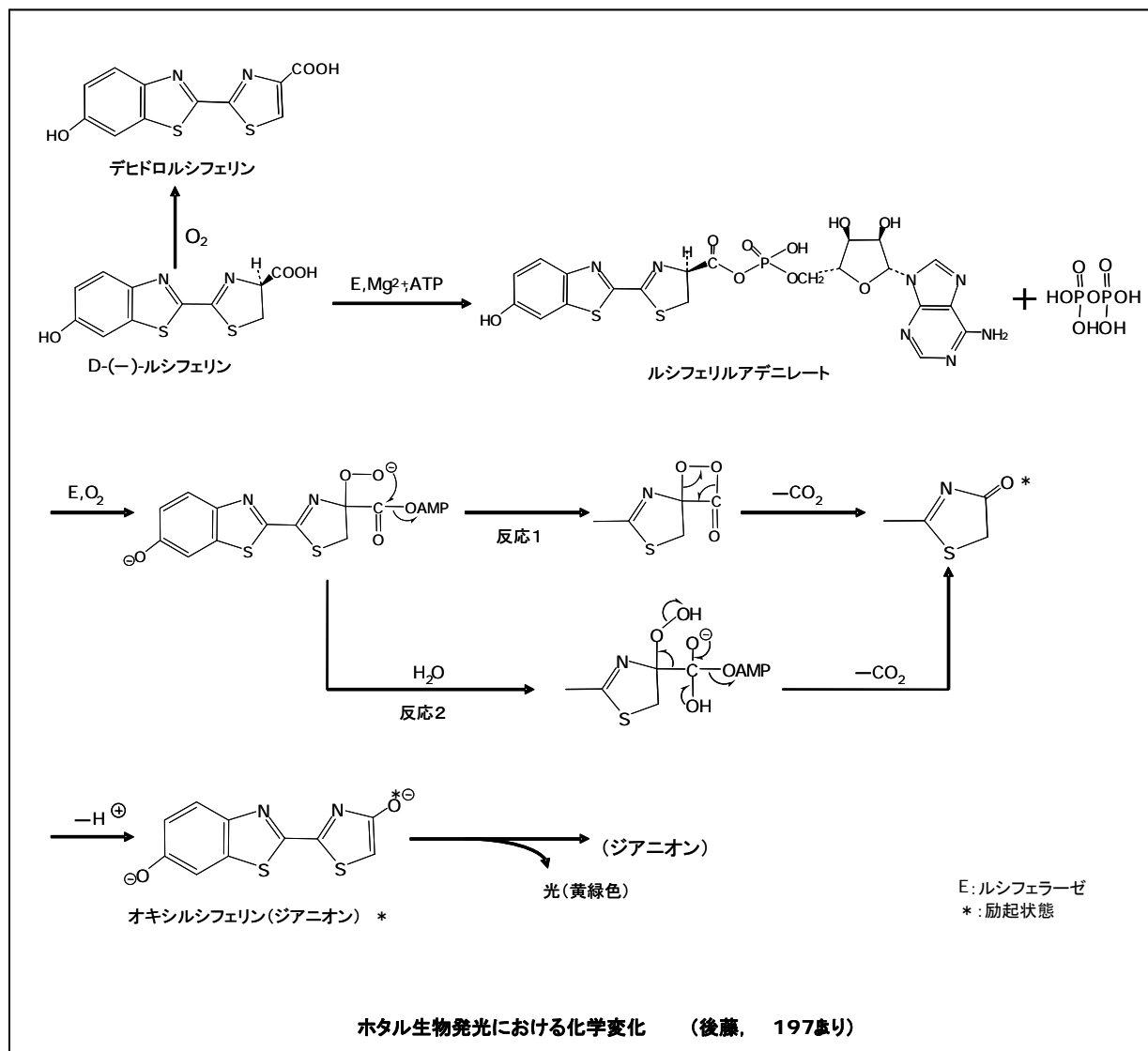
$-H^{\oplus}$

（ジアニオン）

光（黄緑色）

オキシルシフェリン（ジアニオン）　＊

E：ルシフェラーゼ
＊：励起状態

ホタル生物発光における化学変化　（後藤，　1975より）

ご使用上の注意

本製品は、バイオ教育を目的として開発されたキットです。本取扱説明書に記載されたプロトコル以外での使用につきましては、保証の限りではございません。

商品のご返品について

商品のご返品につきましては、弊社の確認を必要とさせていただきます。この確認なしでのご返品はご遠慮ください。適切な保存、ご使用をされていない製品についてはご返品をお受けできない場合がございます。また、品質保持のために返品された製品を再販することは一切ございません。

カスタマーサポート

Feel so Bioシリーズ　カスタマーサポート係
TEL：03-6277-8041
FAX：03-6277-8042
Mail：info@feelsobio.net

※FAXをご利用の場合は、同封のFAX用紙にご記入の上ご送信ください。

製造・販売元

株式会社リバネス　http://www.leaveanest.com

〒160-0004
東京都新宿区四谷2-8 藤井ビル5F
TEL 03-6277-8041
FAX 03-6277-8042

販売

コスモ・バイオ株式会社
〒135-0016　東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル
TEL：（03）5632-9610　FAX：（03）5632-9619
e-mail：mail@cosmobio.co.jp
URL：http://www.cosmobio.co.jp/